R. UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

190

INTERNATIONAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
AUG 1946

O. VERONA E G. MENCARINI

SUL "ROT BIANCO" DELLA VITE.

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME III - (XLI DALLA FONDAZIONE)
1940 - XVIII

PISA, PREMIATO STABILIMENTO TIPOGRAFICO G. CURSI & FIGLI - 1940 XVIII

O. VERONA E G. MENCARINI

SUL "ROT BIANCO" DELLA VITE

SOMMARIO

1 – Cenni storici
2 – Caratteri della malattia
3 – Condizioni di sviluppo
4 – Riferimento sistematico del parassita
5 – Isolamento e studio morfo-colturale di *Coniothyrium diplodiella*
Comportamento su vari substrati
6 – Ricerche fisiologiche
a) germinazione delle spore
b) nutrizione
c) influenza della reazione del mezzo
d) ricerca di attività enzimatiche
e) influenza della luce
f) influenza della temperatura
g) azione esercitata da alcune sostanze chimiche
7 – Profilassi e cura della malattia
Bibliografia

RIASSUNTO – Nella presente Nota sono stati portati contributi alla conoscenza del "rot bianco" della Vite dovuto al parassitismo di *Coniothyrium diplodiella.* Premesse alcune nozioni storiche e bibliografiche, vengono descritti i caratteri esterni della malattia fissandosene le condizioni di sviluppo.

Quindi è stato trattato del riferimento sistematico del parassita. Non risulterebbe confermato che a *Coniothyrium diplodiella* corrisponda, quale forma perfetta, *Charrinia diplodiella.*

In particolare, è stato eseguito lo studio morfo-colturale e fisiologico del parassita sì da chiarire alcuni aspetti della sua biologia.

Infine, si è trattato dei mezzi atti a combattere il morbo.

RÉSUMÉ. – Dans cette Note sont apportées des contributions qui aideront à faire mieux connaitre le "Rot blanc" de la Vigne, maladie due au parasitisme du *Coniothyrium diplodiella.* A quelques notions historiques et bibliographiques font suite

la description des caractères extérieurs de la maladie et les conditions qui en favorisent le développement.

De suite on s' occupe des rapports systématiques du parasite. Rien n'epreuve qu' au *Coniothyrium diplodiella* corresponde comme forme parfaite, la *Carrinia diplodiella*.

Des études particulières ont été achevées sur le parasite du point de vue morphoculturale et physiologique, de sorte qu' on peut donner des éclaircissements sur certaines aspects de sa biologie.

Enfin, on s' est occupé des moyens appropriés pour combattre la maladie.

ZUSAMMENFASSUNG – In dem vorliegenden Bericht werden Beiträge zur Kenntnis der Weiss-Fäule des Weinstockes geliefert, die von der Schmarotzertätigkeit des *Coniothyrium diplodiella* herrührt. Nachdem einige historische und bibliographische Bemerkungen vorausgeschickt sind, werden die äusseren Kennzeichen der Krankheit beschrieben und ihre Entwicklungsbedingungen klargestellt. Dann wird über die systematische Eingruppierung gehandelt. Es bestätigt sich danach nicht, dass dem *Coniothyrium diplodiella* als reife Form *Charrinia diplodiella* entspricht.

Im einzelnen wird die kulturelle Morphologie und Physiologie des Schmarotzers in der Weise untersucht, dass auf seine Biologie von verschiedenen Seiten Licht fällt.

Schliesslich wird von den Mitteln gehandelt, die geignet sind, die Krankheit zu bekämpfen.

SUMMARY – Notes are furnished on the contributions towards further knowledge of the "White rot" of the vine which is due to the parasitism of *Coniotyrium diplodiella*. Historical and bibliographycal notes introduce a description of the external characteristics of this disease and establish the conditions of its development.

A treatise on systematic report follows. No proff has been forthcoming which can identify *Coniothyrium diplodiella* with *Charrinia diplodiella* as a perfect form.

The parasite was the object of special studies both from a morpho-cultural as from a physiological point of view, in order to bring to light some aspects of the biology thereof.

Finally ways and means were examined whereby the said disease may be fought.

1 - Cenni storici

La prima segnalazione scientifica del " rot bianco „ della Vite devesi a SPEGAZZINI nel 1868; egli osservò la malattia a Conegliano e ne indicò l'agente nel *Phoma diplodiella.*

Invero, secondo Dufour, la malattia doveva essere già da tempo nota in Europa; ed egli crede di trovarne testimonianza in un libro di Reymondin pubblicato a Losanna nel 1798 dal titolo "L'art du vigneron pour servir de direction aux propriétaires de vignes „. Nel cap. XXVI trattando, l'A., " De la maladie des raisins suite de la grêle „ darebbe tale una descrizione del male da lasciar supporre trattarsi, ragionevolmente, del rot-bianco.

Comunque, dopo la prima segnalazione di SPEGAZZINI troviamo in SACCARDO, nel 1884, il passaggio di *Phoma diplodiella* al gen. *Coniothyrium* per il colore bruno delle spore.

Nel 1885 VIALA e RAVAZ segnalano la malattia in alcune regioni dell'Austria. PRILLIEUX, nel 1886, indica presente nella Vandea il *Coniothyrium diplodiella* che considera vero parassita della Vite.

Nello stesso anno il R. Laboratorio Crittogamico di Pavia ricevette campioni di grappoli ammalati da Torino, Faenza, Firenze. BACCARINI, che esaminò il materiale, vi rinvenne un *Phoma* che diagnosticò dapprima come *Phoma Briosii* n. sp. ma che poi convenne di ritenere trattarsi di uno stato immaturo di *Coniothyrium diplodiella.*

Nel 1887 si contano numerose segnalazioni. Intanto, PLANCHON richiama l'attenzione sulla malattia che denomina " rot-livide „ e ne dà i caratteri differenziali del " Black-rot „ con cui, un po' ovunque, veniva confusa. FOEX e RAVAZ constatarono la presenza del parassita in molti dipartimenti francesi e nei cantoni di Ginevra e Vand in Svizzera. VIALA lo segnala in America e precisamente ai confini del territorio degli Indiani e dello Stato del Missouri. PIROTTA, MARCHESE, CAVARA, lo segnalano in Italia nei vigneti di Ovada Erba, Stradella, Casteggio, ecc.

Nelle Rassegne Crittogamiche del R. Lab. Crittogamico di Pavia *Coniothyrium diplodiella* si trova spesso ricordato a partire dal 1891. In quest'anno viene dato presente nel Canavese; nel 1892 in quel di Verona; nel 1893 in alcune località del Veneto e a Brescia; nel 1897 a Udine e a Brindisi; nel 1900 ancora a Torino; nel 1901 a Novara e Milano ecc.

Faës ricorda come nel 1901 sia stato segnalato in Algeria. Lo stesso Autore lo segnala ancora nella Svizzera, e, a partire dal 1922, ne controlla lo sviluppo raccogliendo dati ed osservazioni interessanti i quali costituiscono, con il lavoro di Istvanffi, apparso nel 1902, un contributo considerevole alla conoscenza della malattia.

Ancora nella Svizzera nel 1922 il parassita è segnalalo da Müller-Thurgau; e, nello stesso anno, da Nagorny nel Caucaso.

Nel 1923 Howitt dà la malattia come nuova per l'Ontario ed aggiunge che nel distretto del Niagara alcune varietà di Vite hanno subito un danno pari all'80%. Sempre nel 1923 Nisikado la segnala per il Giappone; nel 1925 Ivanoff e Pateff la riscontrano in Bulgaria; nel 1926, Lobik, in Russia; Veresciaghin in Bessarabia, Berro Aguilera in Spagna; Quaintance e Shear negli Stati Uniti, Nagorny in Transcaucasia.

Nel 1930 riappare una segnalazione per la Svizzera (Osterwalder) mentre Savulescu denuncia danni del 10-15% in Rumenia.

Ancora Acosta, nel 1931, rinviene il *Coniothyrium diplodiella* nell'Uraguay; Lohwag, nel 1932, in Austria con danni del 30%; Cheo, nel 1936, in Cina.

In Italia, dopo le ricordate segnalazioni del R. Laboratorio Crittogamico di Pavia, se ne trova notizia nelle Rassegne della R. Stazione di Patologia Vegetale di Roma che ricorda danni di qualche intensità, nel 1932, nel Veneto; nel 1933 danni limitati nel Lazio; e nel 1935 ancora nel Lazio e nella Toscana.

Infine Perotti, nel 1937, rinviene il parassita nelle colline Pisane e riscontra per esso un danno del 50%.

Si tratta, ovunque, di una malattia alquanto diffusa o, comunque, in via di diffusione, capace di produrre perdite talvolta considerevoli.

Per tale motivo si è voluto richiamare l'attenzione su di essa, procurando — a complemento di quanto è noto — di portare alcune contribuzioni alla conoscenza della biologia del parassita.

2. – Caratteri della malattia

[*Ital.*: Marciume bianco, Rot-bianco; *Franc.*: Rot-blanc, Rot-livide; *Svizz.*: Coître, Maladie de la grêle; *Ingl.*: White Rot; *Ted.*: Weissfaüle].

La malattia si presenta molto raramente sopra i rami. Nel caso, sono i giovani sarmenti che risultano attaccati. Vi si formano tacche lunghe fino a 5 cm., prima brune o nerastre, indi color grigio-terra. In conseguenza si determina il distacco della corteccia ove appaiono numerose le fruttificazioni picnidiche del parassita. Alterazioni di questo genere sono state descritte da Ravaz (1888), da Gouirand (1901), da Nisikado (1923) e Nagorny (1923).

Le alterazioni più gravi interessano, tuttavia, i grappoli. In questi, l'infezione sembra che si determini dapprima nel rachide o sui peduncoli in relazione a ferite, causate sopratutto dalla grandine o da altre cause. Dai peduncoli l'infezione passerebbe poi, per via interna, agli acini.

Sul rachide e sui peduncoli il parassita si manifesta determinando prima piccole verruche biancastre sulla superficie dell'epidermide: tali verruche in seguito si fanno rilevate causando la lacerazione dell'epidemide stessa che si risolve in una polvere biancastra. Rimangono allora, in corrispondenza, tacche brunastre più chiare verso la periferia ove si differenziano i concettacoli fruttiferi del *Coniothyrium* che assumono prima colore biancastro, indi bruno, più o meno intenso. Sugli acini la parte alterata presenta, da principio,

zone diversamente colorate volgenti poi al livido. In corrispondenza di tali zone si formano allora piccole pustole che danno un aspetto rugoso all'acino. La rugosità aumenta in quanto il micelio invade completamente l'acino che si dissecca e, facilmente, si stacca. Alla sua superficie si formano, pertanto, numerose fruttificazioni bianco-grigiastre, poi nere, specie se alcuni picnidi maturi si aprono e lasciano diffondere le spore.

VIALA e RAVAZ, come CAVARA, hanno osservato fruttificazioni anche sui tegumenti del seme.

L'infezione è riproducibile sperimentalmente, e le alterazioni che si determinano sono del tutto analoghe a quelle naturali. E' tuttavia da osservare che per la riproduzione sperimentale della malattia occorre inoculare i peduncoli dei grappoli assai presto, quando, cioè, sono ancora verdi. Sugli acini l'infezione non si determina se la superficie ne è integra; assai facilmente, invece, la si ottiene quando si inoculi per incisione o puntura. In via sperimentale (FOËX) anche le foglie possono risultare attaccate. In Natura ciò non sembra determinarsi, nonostante contrarie affermazioni di ISTVANFFI, sia perchè eventuali ferite o lacerazioni cicatrizzano piuttosto rapidamente, sia perchè le spore del parassita germinano molto male e lentamente nell'acqua.

3 - Condizioni di sviluppo

Le condizioni di sviluppo della malattia sono state sopratutto studiate da ISTVANFFI e FAËS. Secondo ARNAUD molti punti, tuttavia, restano ancora ad essere chiariti.

Intanto, poco è noto sulla recettività delle diverse specie e varietà; e resta anche a stabilirsi definitivamente la possibilità di attacco dei diversi organi della pianta.

In merito, già si è detto come gli acini siano gli organi più colpiti; i rami un po' meno; e le foglie affatto, almeno in condizio-

ni naturali. In condizioni sperimentali il fatto è possibile qualora si mettano le foglie in camera umida e le spore del parassita si facciano germinare in adatti liquidi nutritizi.

Ad ogni modo, sul manifestarsi del male, ha influenza indubbia la grandine o qualsiasi altra causa capace di determinare lesioni. Soltanto in alcuni casi — osserva FAËS — lo sviluppo del Rot-bianco può essere indipendente dalla grandine o dal determinarsi di ferite. In questi casi il manifestarsi del male può ammettersi dipendere da forti precipitazioni capaci di elevare sensibilmente, sia pure per breve tempo, l'umidità dell'ambiente; o altrimenti, qualora si abbia grandine e non ferite, potrebbe supporsi dipendere da una specie di bruciatura determinata dal contatto degli acini con i tessuti della pianta relativamente caldi. Si formerebbe allora una zona di devitalizzazione capace di favorire l'attecchimento e l'invasione del parassita.

Tuttavia l'influenza esercitata della grandine sulla manifestazione del male è quella che più di ogni altra ha richiamato l'attenzione dei fitopatologi, in vista anche dei riflessi economici nei riguardi delle pratiche assicurative. D'altronde, lo sviluppo epidemico intenso, escluso quello da attribuirsi a ferite occasionali (uccelli, insetti, vento, ecc.) sembra provato che segua alla caduta della grandine solo fatto capace di produrre simultaneamente numerose ferite. FAËS che ha seguito l'eventuale apparire del male per un numero considerevole di anni, osserva come in Svizzera le zone colpite dal marciume bianco corrispondano sempre alle zone grandinate. Ma in altri Paesi, su varietà di Vite diverse da quelle coltivate in Svizzera, in condizioni di ambiente e di coltura del pari diverse, gli attacchi epidemici del Rot-bianco sono anche conseguenza di grandinate? In Svizzera le Compagnie di Assicurazioni ammettono tale correlazione e pertanto liquidano, oltre ai danni effettivi dovuti alla grandine, un supplemento nel caso si manifestino attacchi da *Coniothyrium*.

Altrove ciò non risulta in quanto le Compagnie affermano

che il marciume bianco si sviluppa indipendentemente dalla grandine alla stessa stregua della Peronospora, dell' Oidio, ecc.

Altra ovvia condizione di sviluppo, oltre al determinarsi delle ferite, è la temperatura. Il punto termico favorevole sembra aggirarsi intorno ai 28° C. A 5° C. e a 35° C. lo sviluppo del parassita diviene lento o insignificante.

Infine, è necessario che dalla lesione fuoriesca succo e che esso presenti un determinato titolo zuccherino e acido.

Sopra queste ultime condizioni si avrà occasione di ritornare.

4. - Riferimento sistematico del parassita

Nel quadro sistematico di SACCARDO il parassita si inquadra entro il Gen. *Coniothyrium* giusta i caratteri che presenta e dei quali sarà dato cenno in appresso.

Ad esso, secondo CAVARA, deve riportarsi anche *Phoma baccae* descritto da CATTANEO nel 1876 e producente le stesse alterazioni del *Coniothyrium diplodiella*. Ne differirebbe, più che per la struttura dell'apparecchio sporigeno e per la forma e le dimensioni delle spore, per avere pseudobasidi ramosi e conidi jalini . Osserva tuttavia CAVARA che anche in picnidi di *Coniothyrium* è dato di rinvenire, insieme a pseudobasidi semplici cilindrici o clavati, pseudobasidi bi-triforcati in relazione ai diversi substrati, e che il colore delle spore dipende unicamente dal loro stadio di maturazione. E così dicasi, sempre secondo CAVARA, per quanto si riferisce a *Greeneria fuliginea*, altro Sferopsidale feosporeo rinvenuto sui grappoli di Vite, in America, da SCRIBNER E VIALA

Nel sistema di PETRAK E SYDOW, *Coniothyrium diplodiella* passa al gen. *Coniella*.

Non si conoscono con sicurezza altre forme di fruttificazione nonostante alcuni reperti di VIALA e RAVAZ. Questi Aa., nel 1879, so-

pra rametti di Vite conservati in sabbia sterile avrebbero rinvenuto una forma periteciale, distinta con il binomio *Charrinia diplodiella* da essi ritenuta forma perfetta del *Coniothyrium*.

Ma *Charrinia diplodiella*, passata poi, da BERLESE, al gen. *Metasphaeria*, non è stata più osservata. In particolare non è stata rinvenuta da ISTVANFFI nè da FAËS, nè da noi che pur ci siamo messi nelle stesse condizioni di VIALA e RAVAZ oltre ad aver determinato altre condizioni seguendo le colture per tre anni consecutivi.

L'osservazione di VIALA e RAVAZ rimane quindi isotata e difficilmente accettabile.

5 – Isolamento e studio morfo-colturale di *Coniothyrium diplodiella*

C. diplodiella è stato agevolmente isolato da uva affetta da Marciume bianco. Per l'isolamento sono state eseguite piastre all'agar-fagiuoli insemenzate con materiale infetto contenente picnidi maturi.

Le colture ottenute si sono rese pure a mezzo di successivi trapianti. Da esse, infine, si ebbero quelle monosporiche mediante le quali vennero effettuate le presenti ricerche.

COMPORTAMENTO SU VARI SUBSTRATI

1.° — *In agar - fagiuoli saccarosato* — Crescita relativamente lenta: fruttificazione tarda a comparire. Dapprima si sviluppa micelio superficiale, bianco, sopra il quale trascorsi 20-30 giorni, si differenziano, più o meno numerosi, i picnidi.

Questi appaiono esternamente neri ma la loro parete è giallo-ocracea pseudoparenchimatosa. Sono globosi e misurano circa μ 210-260 di diametro. Verso la parte bassa sorgono gli pseudobasidi, semplici, appuntiti all'apice e portanti ciascuno una picnospora.

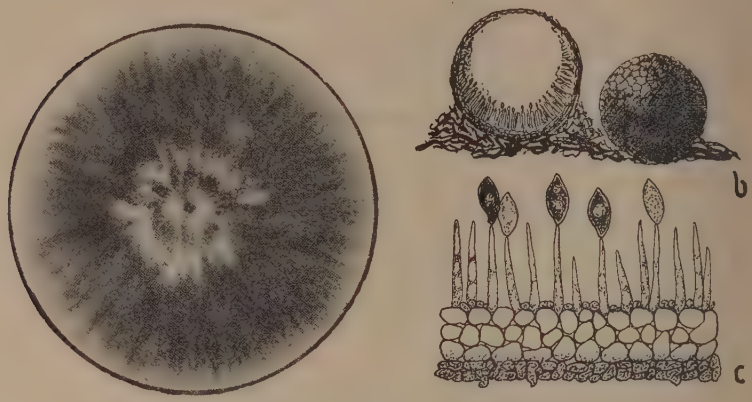


Fig. 1. – *Coniothyrium diplodiella* su agar-fagiuoli saccarosato.
a) - colonia su piastra
b) - picnidi
c) - parete di un picnidio mostrante pseudobasidi e stildspore.

Le spore sono brune, più o meno a seconda del grado di maturazione, con membrana evidente, spesso racchiudenti una goccia oleosa. Hanno forma varia, da ovoide a piriforme e misurano μ (4.3 7.1) × (7.9 - 11.8).

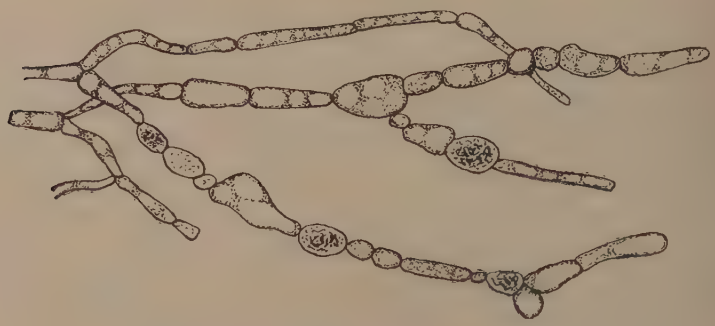


Fig. 2. – Micelio di *Coniothyrium diplodiella* su agar peptone.

2° *Su agar-peptone.* Sviluppo lentissimo di vegetazione singolarmente scarsa. Lo scarso micelio sviluppato si presenta involuto, vacuolizzato, ora molto sottile, ora grosso, clamidosporioide, jalino.

Fruttificazione assente.

3° *Su agar-malto.* Vegetazione abbondante ed invadente tutto il substrato, dapprima biancastra, indi giallo-ocra. Micelio sottile di μ 1.8-2.6 di calibro in media e circa, ramificato, non evidentemente o, comunque, frequentemente settato, ricco di granulazioni.

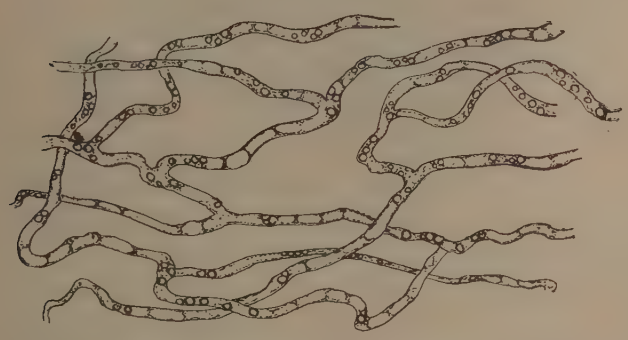


Fig. 3. – Micelio di *Coniothyrium diplodiella* su agar-malto.

Fruttificazione rapida ed abbondante. Picnidi quasi mai isolati ma riuniti in gruppi di 3-15. Essi sono bruno-neri, globosi, di μ 260 circa di diametro o di μ 131×210-240. Picnospore obovali e piriformi di μ (4.4-7.1) × (7.8-12).

4° *Su agar - paglia.* Scarso sviluppo di micelio pleomorfo e pleometrico. Fruttificazione anche scarsa. Picnidi di μ 265×280 circa, spore di μ (5.8-7.9) × (7.9-11.8)

5° *Su-agar paglia saccarosato.* Sviluppo ancora limitato ma un po' più abbondante del precedente. Fruttificazione mediocre, subgregaria.

6° *In gelatina.* Sviluppo limitato in superficie con non abbondanti fruttificazioni. Il reperto microscopico indica presenza di formazioni clamidosporioidi, jaline.

Fig. 4. – Aspetto microscopico di *Coniothyrium diplodiella.*

7° *In carota.* Vegetazione relativamente pronta a svilupparsi. Assume colore tendente all'ocraceo con sfumature giallo-oro; è vellutata, liscia. Micelio sottile e ramificato.

Fruttificazioni picnidiche talvolta tarde a comparire, ora subgregarie, ora sparse fino a ricoprire tutto il pezzo di carota.

Non manca, e spesso è abbondante, la formazione di pigmento solubile che colora intensamente in giallo-oro l'acqua di deposito al fondo del tubo di coltura. Tale pigmento schiarisce in presenza di acido cloridrico concentrato; rimane invariato con ac. solforico; precipita con alcali potassico; è parzialmente solubile in alcool etilico e amilico; non in benzolo, xilolo, cloroformio, alcool metilico.

8° *In patata.* Sviluppo di vegetazione vellutata, liscia, di colore ocraceo, invadente il substrato. Differenziazione di picnidi piuttosto tarda. Micelio sottile e ramificato, jalino.

9° - *Liquido di Raulin originale e neutro* - Sviluppo quasi nullo limitato a piccolissime scarse coloniette natanti in seno al liquido.

10° *Brodo di fagiuoli saccarosato* - Sviluppo più che discreto di membrana feltrosa in superficie; qualche colonietta in seno al li-

quido. Picnidi di μ 180-260 di diametro sparsi su tutta la superficie della membrana. Micelio jalino, pleomorfo e pleometrico, talvolta di aspetto clamidosporioide.

Fig. 5. – Aspetto colturale di *Coniothyrium diplodiella* in liquido di Giltay.

11° - *Liquido di Giltay* - Lento sviluppo di coperta sottile, nerastra, ricadente, costituita da micelio grosso, bruno, a cellule tipicamente e fortemente brune, più o meno grandi, di circa μ 15.8 × 19.7 essendo subrotonde od allungate.

12° - *Colture su tralci di Vite ed altri organi vegetali* - La ricerca aveva per iscopo, sopratutto, quello di provocare l'eventuale formazione di altre forme di fruttificazione, oltre la nota forma picnidica.

A tal fine, in grosse provette, sono stati disposti pezzi di organi vegetali. Furono introdotti in sabbia umida fino a metà altezza, indi sterilizzati all'autoclave. Fu seminato con una sospensione di spore e mantenuto in coltura per quasi tre anni.

a) *Su Vite* - Sono state riprese le condizioni sperimentali di Viala e Ravaz. Alcuni tralci di Vite furono completamente interrati nella sabbia, altri soltanto fino a metà: in ogni caso i pezzi furono resi sterili a mezzo di autoclavatura. Seguito periodicamente lo sviluppo per tre anni consecutivi è stato possibile di osservare che

Coniothyrium diplodiella si sviluppa relativamente bene, producendo picnidi piuttosto grossi e sparsi, parzialmente immersi nella matrice, contenenti picnospore regolari più o meno brune.

Non sono stati osservati altri tipi di fruttificazione.

Fig. 6. – Comportamento di *Coniothyrium diplodiella* su vari organi vegetali.
1 - su Alloro – 2 - su Vite – 3 - su Evonimo – 4 - su Frumento.

b) *In Evonimo* - Attecchimento buono, picnidi non gregari, misuranti fino μ 500. Spore con guttule, talvolta irregolari di forma.

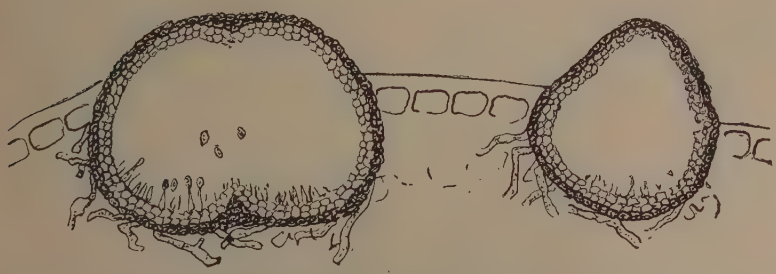


Fig. 7. – Picnidi di *Coniothyrium diplodiella* su tralci di Vite.

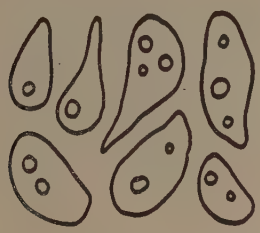


Fig. 8. – Picnospore di *Coniothyrium diplodiella* su Evonimo.

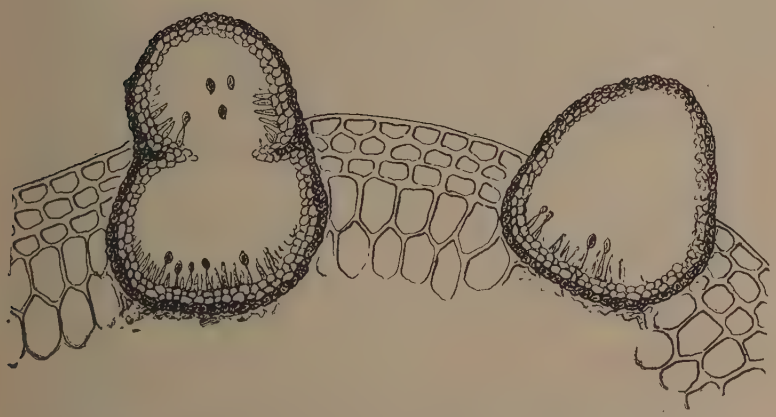


Fig. 9. – Picnidi di *Coniothyrium diplodiella* su culmi di Frumento.

c) *In Alloro* - Attecchimento meno buono che nella Vite - Fruttificazioni come in Evonimo.

d) *In Tuja* - Sviluppo mediocre: fruttificazione scarsa. Picnidi non gregari di μ 400-500 - Picnospore normali.

e) *In Frumento* - Fruttificazioni scarse, isolate, un poco approfondentisi nella matrice - Picnidi di μ 260-390 con picnospore poco pigmentate.

f) *In Pioppo* - Lungo il legno sviluppo quasi nullo. Appena scarsi addensamenti miceliari costituiti da filamenti sottili di μ 1.2-1.8

6 – Ricerche Fisiologiche

a) Germinazione delle spore

La germinazione delle spore di *Coniothyrium diplodiella* avviene più o meno bene e rapidamente a seconda della temperatura e e del mezzo.

A 18° C., in acqua di fonte, la germinazione è lenta e soltanto l'8-12% delle spore germina. In infuso di foglie di Vite o di tralci la germinazione è più rapida, e già al 2° giorno si arriva al 60%. Ma la velocità e percentuale di germinazione aumentano qualora si impieghi succo di uva. In ventiquattr'ore, per tal modo, si ottiene una germinazione del 90-93%. Occorre quindi un mezzo relativamente ricco di sostanze nutritizie. E di ciò si ebbe conferma effettuando prove di germinazione in acqua glucosata o saccarosata presente nitrato potassico e fosfato bipotassico siccome risulta dal seguente prospetto.

Temp. di germinazione: 18° C.
Substrato base: acqua 100; KNO_3 0.025%; K_2HPO_4 0.01 %.

	% di spore germinate dopo giorni:					
% di glucosio	1	2	3	4	5	6
0.01	–	–	–	10	20	25
0.1	–	–	–	20	30	50
0.5	–	20	25	25	50	60
1 -	–	25	25	40	50	60
2 -	40	50	50	60	80	100

Dal prospetto risulta anche che il tenore in zucchero non deve discendere al disotto del 2%.

Germinando, le spore emettono un tubo che in genere si ingrossa e poi, allungandosi, subito si ramifica.

b) Nutrizione

Una prima esperienza è stata eseguita effettuando colture su agar addizionato o meno di sostanze azotate o carboniate: queste ultime nella proporzione del 2%.

Risultò;

	acqua	glucosio	saccarosio
nitrato potassico 0.5%	—	++	+
solfato ammonico 0.5%	—	+++	++
asparagina 0.5%	—	++	++
urea 0.05%	—	—	—
peptone 0.5%	+	++++	+++

Ad eccezione dell'urea, in nessun caso utilizzata, le altre sorgenti azotate lo furono, più o meno, se presenti zuccheri, in ispecie glucosio. Soltanto il peptone, per la sua complessa costituzione, può

Fig. 10. – Aspetto del micelio del *Coniothyriam diplodiella* in mezzi azotati.

consentire un qualche sviluppo del fungo a prescindere dalla presenza degli zuccheri. Ma si tratta, comunque, di sviluppo limitatissimo.

Su agar-acqua, contenente soltanto glucosio o saccarosio, lo sviluppo è apparso mediocre. Quivi il reperto microscopico indica presenza di micelio sottile di μ 1.8-2.2, ramificato, jalino, insieme al quale si presenta più tardi un micelio di maggior calibro pigmentato in giallo-ocra. La fruttificazione è scarsa. In mezzi contenenti nitrato o solfato ammonico od asparagina, il micelio appare jalino, pleomorfo e polimetrico, singolarmente vacuolato, privo di fruttificazioni.

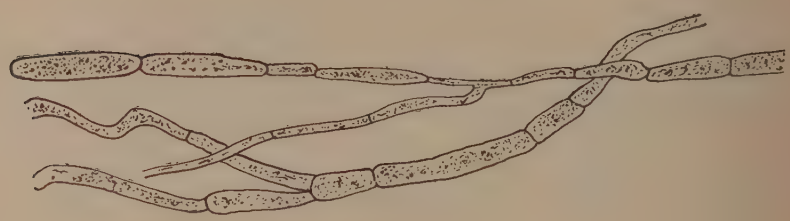


Fig. 11. – Aspetto del micelio di *Coniothyrium diplodiella* in mezzi contenenti peptone.

Presente peptone, il micelio appare ancora polimetrico: si hanno ife di μ 1.8-2.2 di diametro fino a μ 6. I filamenti più grossi presentano setti ravvicinati, plasma granuloso e sono leggermente pigmentati in giallo.

Altra prova è stata effettuata, invece che su agar, in mezzi liquidi prendendo come substrato-base acqua di lievito. Le colture furono mantenute 60 giorni in termostato a 24-25° C.; indi furono raccolte le membrane e pesate previo essiccamento a 110° C., ottenendosi:

Mezzo colturale		Peso memb. a 110° C. gr.	Osservazioni
acqua di Lievito		0.145	Coperta non molto spessa con scarse fruttificazioni. Micelio bruno toruloide
KNO_3 0,5 %	—	0.051	Coperta sottile, non consistente, bianca, fioccosa, semi-immersa nel liquido. Micelio jalino clamidosporioide, fruttificazioni assenti.
	gluc. 2 %	0.280	Sviluppo buono e buona fruttificaz. Leggera formazione di pigmento giallo-ocra.
	saccar. 2 %	0.245	
$(NH_4)_2 SO_4$ 0,5 %	—	0.064	come in presenza di KNO^3
	gluc. 2 %	0.263	id. id. id
	saccar. 2 %	0.253	
asparag. 0.5 %	—	0.098	Sviluppo e fruttificazione scarsi
	gluc. 2 %	0.210	Formazione di pigmento giallo-ocra evidente
	saccar. 2 %	0.226	
peptone 0.5 %	—	0.062	Assenza di fruttificazione; membrana parziale, lassa
	gluc. 2 %	0.294	Più evidente formazione di pigmento
	saccar. 2 %	0.245	

Questi reperti confermano i precedenti e mettono ancora una volta in evidenza la scarsa utilizzazione delle sorgenti azotate qualora non siano presenti zuccheri. Anzi si potrebbe affermare che le predette sorgenti azotate inibiscono, nel mezzo impiegato (acqua di Lievito) lo sviluppo del fungo.

In particolare, per le sorgenti di carbonio si ottenne:

Mezzo colturale		Peso membrana a 110° C.gr.	Osservazioni
acqua di Lievito con 1 % di:	glucosio	0.230	Sviluppo in ogni caso buono e fruttificazione abbondante
	levulosio	0.241	
	saccarosio	0.248	
	maltosio	0 243	
	glicerina	0.205	
	mannite	0.185	

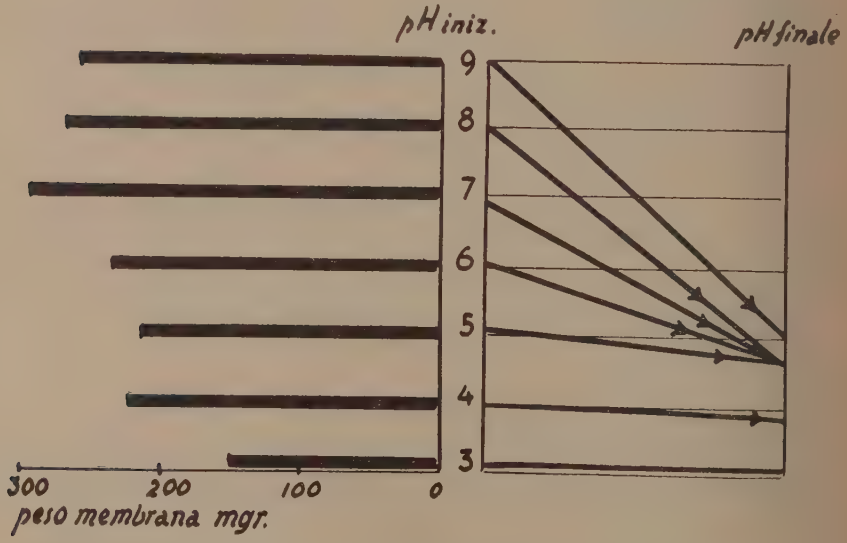


Fig. 12. – Sviluppo di *Coniothyrium diplodiella* in mezzi a diversa concentrazione idrogenionica.

Il quadro dimostra che gli zuccheri sono tutti ugualmente bene utilizzati. Anche, sebbene un po' meno, glicerina e mannite.

c) INFLUENZA DELLA REAZIONE DEL MEZZO

Questa ricerca si presentava di particolare importanza poichè osservandosi che il Marciume bianco si sviluppa allorquando gli acini sono in via di maturazione, poteva sospettarsi che *Coniothyrium diplodiella* esigesse una reazione non acida. In effetti, VIALA, afferma che i mezzi non acidi appaiono i più favorevoli allo sviluppo del parassita. Per contro FAËS e STAEHELIN pervennero ad altre conclusioni. Eglino osservarono che le spore di *Coniothyrium diplodiella* germinavano assai rapidamente ed abbondantemente in soluzioni acide (pH 2.9 - 5.9); più lentamente nelle soluzioni neutre (pH 6.6-7.9), affatto in quelle alcaline (pH 8,9). Avrebbero tuttavia rilevato che, fermo restando il titolo acido della soluzione e reso tale per aggiunte variamente combinate di acido tartarico e malico lo sviluppo del fungo appare maggiore o minore a seconda della percentuale di zucchero presente. Conclusero pertanto che lo sviluppo del parassita negli acini deve, verosimilmente, trovarsi in relazione con un determinato rapporto tra zucchero ed acidità e che il mezzo più conveniente è quello piuttosto acido e poco zuccherino.

Le prove eseguite al riguardo sono state piuttosto limitate. Venne condotta un'unica ricerca coltivando *Coniothyrium diplodiella* per 40 giorni a 24°C. in brodo di fagiuoli saccarosato al 2%, a diversa concentrazione idrogenionica per aggiunte di alcali potassico od acido solforico.

Al termine del 40° g. le membrane sono state essiccate a 110°C. e pesate determinando, nello stesso tempo, il pH finale della soluzione.

Risultò:

pH iniziale	peso d. membrane g.:	pH finale
3.1	0.155	3.1
4	0.224	3.6
5.2	0.218	4.4
6.1	0.232	4.4
6.9	0.290	4.3
7.8	0.266	4.5
8.9	0.260	5

Nelle condizioni sperimentali realizzate *Coniothyrium diplodiella* avrebbe dimostrato di preferire un mezzo tendenzialmente neutro. Il valore del pH finale, tuttavia, volge verso l'acidità e precisamente a pH 4-5. In altri termini, *Coniothyrium diplodiella* tenderebbe a distruggere l'alcalinità ed a formarsi un mezzo relativamente acido.

d) RICERCA DI ATTIVITÀ ENZIMATICHE

Ossidasi – Ad una soluzione alcoolica di resina di guaiaco all'1% emulsionata con acqua si aggiunge un poco di liquido di coltura ottenendosi, in caso positivo, colorazione azzurra. Reperto negativo.

Perossidasi – All'emulsione acquosa di resina di guaiaco 1% in alcool è aggiunto liquido di coltura ed acqua ossigenata: si ottiene, in caso positivo, colorazione azzurra. Reperto negativo.

Proteasi – Assente: la gelatina non viene fluidificata.

Pectasi – Reperto positivo.

e) INFLUENZA DELLA LUCE

L'esperienza è stata effettuata coltivando *Coniothyrium diplodiella* su agar-fagiuoli saccarosato e mantenuto le colture sotto campane a doppia parete contenenti soluzioni colorate.

Al 40° giorno di coltura risultò il seguente sviluppo comparativo:

luce bianca diffusa	++
— gialla (ac. picrico)	+++
— arancione (metilorange)	++++
— rossa (eritrosina)	+++
— verde (v. metile)	++
— bleu (b. di metilene)	+++
— violetta (viol. di gensiana)	++
oscurità	++++

f) INFLUENZA DELLA TEMPERATURA

Sono state sperimentate temperature comprese tra 16-18° C. e 38-40° C., notando periodicamente lo sviluppo per 30 giorni consecutivi. Fu registrato:

dopo giorni:	10	15	20	25	30
16-18° C.	+	+++	++++	+++++	+++++
22-24° C.	++	++++	+++++	+++++	+++++
28-30° C.	—	++	++	+++	+++
38-40° C.	—	—	—	—	—

Alla temperatura di 38-40° C. *Coniothyrium diplodiella* non sviluppa. Alla temperatura di 28-30° C. lo sviluppo è lento e scarso. Si ha vegetazione sottile, jalina dapprima, indi assumente colorazione giallo-ocra intenso. Nessuna fruttificazione. Nel micelio sono presenti numerose clamidospore ricche di granulazioni colorate. Anche il substrato, con il tempo, assume un bel colore giallo-ocra.

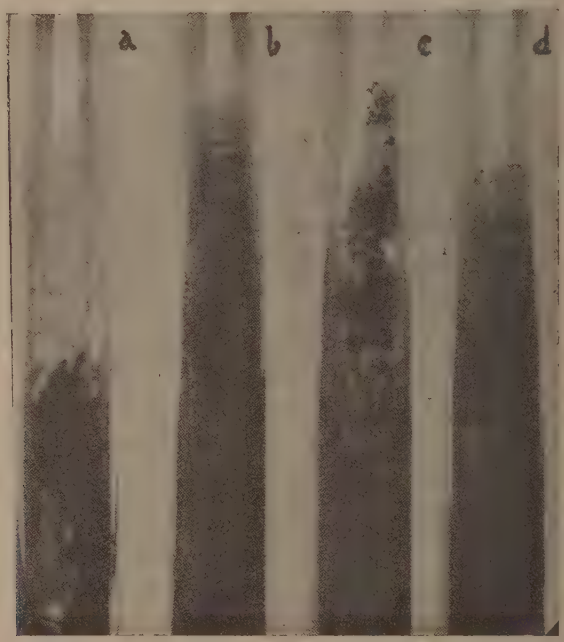
Alle temperature comprese tra i 18-24° C. lo sviluppo è normale.

g) AZIONE ESERCITATA DA ALCUNE SOSTANZE CHIMICHE

Si tratta di alcune prove preliminari:

Sostanze	Concentrazioni					
	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/5000
Solfato di rame	—	—	—	+	+	+
„ „ ferro	—	—	+	+	+	+
Cloruro mercurico	—	—	—	—	—	+
Arsenito sodico	—	—	—	±	+	+
„ potassico	—	—	—	—	+	+
Arseniato sodico	—	—	—	+	+	+
„ potassico	—	—	—	+	+	+
Cloruro di stagno	—	—	+	+	+	+
Nitrato di uranio	—	—	—	+	+	+
Ac. cromico	—	—	—	—	—	—
„ picrico	—	—	+	+	+	+
„ fenico	—	—	—	—	—	±
	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/50000
Verde malachite	—	—	—	—	—	—
Violetto Dahlia	—	—	—	—	—	—

I pochi dati raccolti non consentono un esauriente esame comparativo. Ad ogni modo essi mettono in evidenza, anche per *Coniothyrium diplodiella* la nota azione batteriostatica del verde malachite e del violetto Dahlia e l'azione, diversamente tossica, di alcuni sali minerali.



Ftg. 13 – *Coniothyrium diplodiella* in presenza di alcune sostanze
a) solfato di rame $^1/_{1000}$
b) „ „ $^1/_{6000}$
c) nitrato di uranio $^1/_{1000}$
d) „ „ $^1/_{1000}$

Piuttosto è stato notato che, ove la coltura fruttifichi, i picnidi si fanno notevolmente gregari quando le sostanze siano aggiunte in più

forti quantità. Nei picnidi non si notano, tuttavia, sensibili differenze di volume. Sono frequenti, invece, anomalie nelle spore e frequente anche è la loro rottura per divisione equatoriale.

Fig. 14 – Anomalie nella forma delle spore di *Coniothyrium diplodiella*.
1. in nitrato di uranio $^1/_{1000}$
2. „ „ $^1/_{2000}$
3. in solfato di rame $^1/_{5000}$

7. Profilassi e cura della malattia

La causa più comune predisponente della malattia, si è già detto, è la grandine. Quando questa non si abbia le probabilità d' infezione sono singolarmente ridotte e comunque non tali da conferire carattere epidemico all' attacco parassitario.

Va tenuto presente, ad ogni modo, che le spore del *Coniothyrium diplodiella* mantengono a lungo la loro facoltà germinativa. E' provato che essa persiste, per lo meno, quindici anni.

Ne segue che, dopo un' annata d'infezione, il materiale caduto in terra rappresenta un evidente pericolo. Ciò consiglia pertanto di eseguirne la raccolta e la distruzione, provvedendosi quindi alla disinfezione del terreno. Secondo Faës e Staehelin, questa potrebbe otte-

nersi, se non fosse troppo onerosa, con formolo od acido acetico. In quanto alle lotta diretta vi è chi afferma di avere ottenuto buoni risultati a mezzo di trattamenti con poltiglia cupro-calcica (Howitt).

Faës, che si è particolarmente occupato di questo argomento, ha sperimentato un grande numero di anticrittogamici ma nessuno ne ha trovato che si dimostrasse superiore al comune trattamento cupro-calcico e perciò ad esso da preferirsi.

Pisa, Facoltà di Agraria della R. Università
Istituto di Palologia Vegetale e Microbiologia agraria e tecnica.

(Presentata il 16 Febbraio 1940 - XVIII)

Bibliografia

Acosta D. R. — *Investigaciones fitopatológicas* — Min. Indust. Direc. Agron. Publ. Mens., vol. 4, p. 1, 1931.

Baccarini P. — *Intorno ad una malattia dei grappoli dell'uva* — Milano 1886.

Berlese A. N. — *Lo stato ascoforo del Coniothyrium diplodiella* — Riv. di Pat. Veg., vol. III, p. 104, 1894.

Berro Aguilera J. M. — *Memoria de las experiencias e investigaciones realizadas en Estación de Patologia Vegetal de Almeira*, 1926 [rec. in Rew. Appl. Mycol., vol. 6, p. 76, 1927]

Bovey P. e Staehelin M. — *La lutte contre les parasites de la Vigne, insectes et champignons en 1929* — Ann. Agr. Suisse, 1930.

— *Le coître de la Vigne* — Progrès agric. et vitic., 1935.

Briosi G. — *Rassegna crittogamica pei mesi di luglio, agosto, settembre, ottobre 1892* — Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia, ser. II, vol. III, p. XV, 1894.

— *Rassegna crittogamica pei mesi di luglio e agosto 1893.* Ibidem 1894.

Cattaneo A. — *Due nuovi miceti parassiti delle viti* — Arch. trienn. del Lab. Critt. di Pavia, vol III, p. 109, 1879.

Cavara F. — *Sulla vera causa della malattia sviluppatasi nei vigneti di Ovada* Milano, 1887.

— *Intorno al disseccamento dei grappoli della Vite.* — Atti dell'Ist. Bot. d. R. Univ. Pavia, ser. II, Vol. I, p. 293, 1888.

Cheo C. C. — *A preliminary survey of plant diseases on cultivated plants in Hopei Province 1934-35* — Chin. Bot. Mag., vol. 3, p. 977, 1936,

Dofour J. — *Notices sur quelques maladies de la vigne* — Bull. Soc. Vandoise des Sc. naturelles, XXIII, 1888.

— *Grêle et coître* — Chronique Agr. et. Vit. du Canton de Vand 1895.

Faës. H. e Staehelin M. — *Le coître de la vigne (Coniothyrium diplodiella) ou maladie de la grêle* — Ann. Agr. Suisse, p. 189, 1922.

— *Nouvelle contribution à l'étude du coître de la vigne* — Ann. Agr. Suisse, p. 19, 1923.

— *Troisième contribution à l'étude du coître de la vigne* — Ann. Agr. Suisse, p. 339, 1923, e Rev. de Vitic., vol. 60, p. 52, 1924.

FOEX E RAVAZ. L. — *Sur l'invasion du Coniothyrium diplodiella en 1887* — C. R. Ac. de Sc., 1887.

GOUIRAND G. — *Une invasion de rot blanc sur des pieds-méres américains* — Rev. de Vit., vol. 86. p. 432, 1901.

HOWITT J. E. — *Tho diseases new to Ontario* — Scient. Agric., vol. 3, p. 189, 1923.

ISTVANFFI G. DE — *Études sur le rot livide de la vigne* — Ann. de l'Inst. Ampél. Royal hongrois, vol. 2, p. 1, 1902.

IVANOFF B. E PATEFF H. — *Vine diseases recorder by the Agricultural Exp. Institut.* — Rev. Inst. Rech. Agron. in Bulgarie, vol. 3, p. 237, 1925.

LOBIK A. I. — *Vine disease caused by parasitic fungi* — Terek Regional Plant. Prot. Stat. News., vol. 1, p. 1, 1926.

LOHWAG H. — *Ueber Trüffelvorkommen.* — Verh. Zool. Bot. Gesellsch. Wien, vol. 28, p. 117, 1932.

MARCHESE G. — *Un nuovo malanno delle Uve* — Giorn. Vinic. Ital., 1887.

MÜLLER-TURGAU H., OSTERWALDER A. E JEGEN G. — *Pflanzenphysiologische und pflanzenpathologische Abteilung* — Landw. Jahrb. der Schweiz. vol. 36, p. 774, 1922.

NAGORNY P. T. — *A few words on white rot in Georgia in 1922* — [Ref. in Rew. Appl. Mycol., vol., III, p. 698, 1924].

NAGORNY P. I. E KANTCHAVELI L. A. — *Principal diseases of the Vine in Kakhetia in 1925* — [rec. in Rew. Appl. Mycol., vol. IX, p. 12, 1930].

NISIKADO Y. — *Ueber die durch Physalospora und Coniothyrium verursachten Krankheiten der Weintraube in Japan* — Ber. Ohara Inst., landw Forsch., vol. II, p. 273, 1923.

OSTERWALDER A. — *Starkes Auftreten der Weissfäule* — Schweiz. Zeitschr. für Obst-. und Weinbau vol. 39, p. 339, 1930.

PEROTTI R. — *Note fitopatologiche per gli anni 1935-37* — Boll. d. Fac. Agr. d. R. Univ. di Pisa, 1938.

PERRAUD J. — *Sur le developpement du rot blanc* — C. R. Soc. de Biol., 1896.

PETRAK F. E SYDOW H. — *Die Gattungen der Pyrenomyzeten, Sphaeropsideen und Melanconieen - Vol. I, Die phueosporen Sphaeropsideen und die Gattung Macrophoma* — Berlino, 1927.

PETRI L. — *Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1932* — Boll. R. Staz. Pat. Veg. vol. 12, 1932.

PETRI L. — *Rassegna ecc.* — ibidem, vol. 13, 1933.

PETRI L. — *Rassegna ecc.* — ibidem, vol. 15, 1935.

PIGUET G. A. — *Contribution á l'etude des vins de Raisins grêlés et coîtrés* — Ann. Agr. de la Suisse, vol. 32, p. 155, 1931.

PIROTTA R. — *Sulla malattia dei grappoli* — Le Viti americane, 1887.

QUAINTANCE A. L. E SHEAR C. L. — *Insect and fungus enemies of the grape east of the Rocky Mountains: White rot* — U. S. Agr. Dept. Farmers Bull. 284, 1907.

RAVAZ L. — *Le rot - blanc* — Le Progrés agr. et vit., vol. 5 p. 33, 1888.

REYMONDIN — *L'art du vigneron* — Losanna, 1798.

RHOADS A. S. — *Ripe rots of Grapes and the copper acetates as non staining sprays for late application to control them* — Quart. Bull. State Plant Board Florida. vol. 8, p. 97, 1924.

SACCARDO P. A. — Syll. Fung. III, p. 310, 1884.

SAVULESCU T. — *L'état phytosanitaire en Roumanie au cours de l'année 1928-29* Ann. Inst. Rect. Agron. de Roumanie, vol. 1, p. 214, 1930.

SCRIBNER L. E VIALA P. — *La Greeneria fuliginea nouvelle forme de Rot des fruits de la Vigne observée en Amérique* — C. R. Ac. de Sci., 1887.

SHEAR C. L. — *Mycological Notes I* — Mycologia, vol. 29, p. 355, 1937.

SPEGAZZINI C. — *Ampelomiceti italici* — Riv. di Vitic. ed Enologia, Conegliano, 1878.

VERESCIAGHIN B. — *Les maladies de la Vigne en Bessarabie Centrale en 1926.* Rev. de Vitic., vol. 65, p. 365, 1926.

VIALA P. — *Sur le développement du Rot blanc de la Vigne: Charrinia diplodiella* — C. R. Ac. de Sci., vol. 124, p. 105, 1897.

WESTCOTT C. — *Coniothyrium diplodiella (Speg.) Sacc. on Rose* — Plant Disease Reporter, vol. 16, p. 124, 1932.